

(19)日本国特許庁 (J P)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-316520

(43)公開日 平成6年(1994)11月15日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/20	A D U	9454-4C		
	A D S	-9454-4C		
	A D V	9454-4C		

審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 7 頁)

(21)出願番号 特願平5-300806

(22)出願日 平成5年(1993)11月8日

(31)優先権主張番号 特願平5-76388

(32)優先日 平5(1993)3月11日

(33)優先権主張国 日本(J P)

(71)出願人 000000217

エーザイ株式会社

東京都文京区小石川4丁目6番10号

(72)発明者 鶴見 寿

岐阜県岐阜市則武中1-23-21

(72)発明者 高橋 健

岐阜県岐阜市福住町1-20

(72)発明者 森脇 久隆

岐阜県岐阜市神楽町11

(72)発明者 武藤 泰敏

岐阜県長良3459-91

(72)発明者 東條 有伸

東京都中央区佃1-11-9

最終頁に続く

(54)【発明の名称】非環状ポリイソブレノイド系細胞分化誘導剤

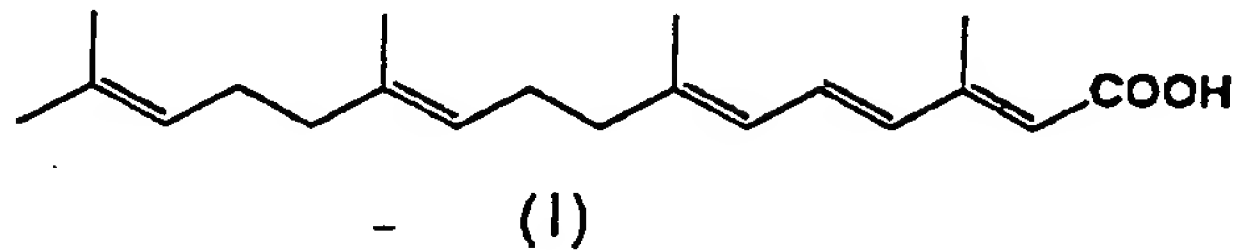
(57)【要約】

【目的】 臨床的有用性の高い医薬品のなかった、細胞分化誘導作用に基づく造血器腫瘍・固形腫瘍などの疾患の治療・改善剤を提供する。

【構成】 従来の癌薬物治療法の基礎となる考え方は、増殖能が異常に高い腫瘍細胞をすべて死滅させるというものであるが、正常細胞に対しても毒性を示すため重篤な副作用が避けられず治療効果にも限界があった。一方細胞分化誘導作用を有するオールトランス-レチノイン酸は、急性前骨髄球性白血病に対して顕著な効果を示すが、重篤な副作用も報告されており、寛解後、再発しやすい問題点もあった。しかし(2E, 4E, 6E, 10E)-3, 7, 11, 15-テトラメチル-2, 4, 6, 10, 14-ヘキサデカペンタエン酸は意外にも細胞分化誘導作用を有しており、また安全性も高く、オールトランス-レチノイン酸とは構造が異なるため再発も起こりにくい可能性が高く、造血器腫瘍、特に急性前骨髄球性白血病および骨髄異形成症候群に対する臨床上有用な治療・改善剤となり得る。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記一般式で表される(2E, 4E, 6E, 10E)-3, 7, 11, 15-テトラメチル-2, 4, 6, 10, 14-ヘキサデカペンタエン酸(I)



またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする細胞分化誘導剤。

【化1】

【請求項2】 造血器腫瘍治療剤である請求項1記載の細胞分化誘導剤。

【請求項3】 急性前骨髄球性白血病の治療・改善剤である請求項1または2記載の細胞分化誘導剤。

【請求項4】 骨髄異形成症候群の治療・改善剤である請求項1または2記載の細胞分化誘導剤。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、(2E, 4E, 6E, 10E)-3, 7, 11, 15-テトラメチル-2, 4, 6, 10, 14-ヘキサデカペンタエン酸(I)またはその薬理学的に許容される塩の細胞分化誘導(以下、分化誘導)作用に基づく、造血器腫瘍の治療・改善剤に関する。

【0002】

【発明の背景】癌(腫瘍)は発現部位・病理像・症状等により多岐に分類されるが、造血器腫瘍の代表的疾患である白血病は血液細胞(白血球)の腫瘍であり、未分化の各種幼若型白血球細胞の増殖が特徴である。またそれらの中でも、増加している腫瘍細胞が未成熟な芽球であるものを急性白血病、成熟細胞であるものを慢性白血病と分類しており、多岐にわたる臨床症状を呈するが、その多くは、正常造血の抑制に基づく症状と、他臓器への浸潤・圧迫に基づく症状に大別することができる。具体的には、正常血球細胞の減少は赤血球減少による貧血・顆粒球減少による感染症や発熱・血小板の減少による出血傾向として現れ、正常造血の抑制は骨髄不全を招く。白血病が予後不良な疾患であることは一般によく知られるところであり、これまでに種々の薬剤や治療方法が検討されてきた。

【0003】急性白血病のなかでも急性前骨髄球性白血病(以下、APL)は、腫瘍細胞が前骨髄球の段階で分化が停止し、多数の粗大顆粒と異型性の強い核を有する前骨髄球が増殖する白血病であり、血液学上のFAB分類ではM3に属し、染色体異常t(15:17)を伴うことが特徴である。さらに臨床的には、粗大顆粒に由来する組織トロンボプラスチンにより汎発性血管内凝固症候群(DIC)を起こしやすく、さらに白血病細胞から放出されるプラスミノーゲン活性化因子やエラスターゼ等の線溶系活性化物質により強い線溶亢進を伴い、重症の出血症状を呈する急性白血病のなかでも最も重篤な疾患である。

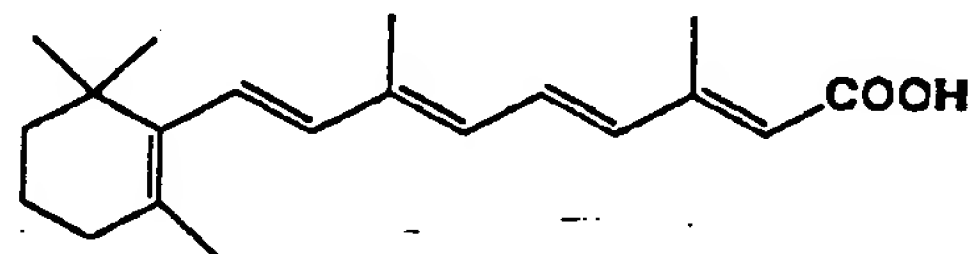
【0004】一方、急性白血病のなかには、芽球が増加して前白血病の血液像を呈するものの、骨髄中で30%に及ばない病態もあり、骨髄異形成症候群(以下、MDS)と呼ばれる。MDSにおいては直ちに臨床症状は現れないが、時間の経過と共に芽球が増し、APLに進展する可能性が高い。

【0005】これらの病態に対するこれまでの薬物治療の基礎となる考え方は、腫瘍細胞である白血病細胞をすべて死滅させることにより治療効果を得るというものであり、従ってよりよい治療成績を上げるために、増殖能が異常に高い腫瘍に対し、細胞毒性による殺細胞作用をより強力に発揮する薬剤の開発や、併用療法、高濃度・多量投与療法などが試みられてきた。しかしこれらの薬剤や治療法は、腫瘍細胞だけに特異的に作用するのではなく、正常細胞に対しても毒性を示すため、心臓・心筋障害、骨髄機能抑制、悪心・嘔吐、神経障害、脱毛等の重篤な副作用が発現し、治療効果にも限界があった。

【0006】一方、従来の制癌剤と比較して安全性のより高い各種分化誘導剤が、in vitroにおいて腫瘍細胞を成熟細胞へ分化誘導する事実は知られており、分化誘導療法への期待が集まっていたが、残念ながら従来の分化誘導剤では臨床での有用性が認められなかった。しかし1988年にヒュン(Huang)らが、下記化学構造式で表されるオールトランス-レチノイン酸(以下、ATRA)

【0007】

【化2】



【0008】がAPL患者に対し100%に近い完全寛解をもたらした臨床成績を報告して以来[ブラッド(Blood), 7, 2, 567-572, 1988.], 世界各国においてその効果が追試・再確認され、造血器腫瘍のみならず固形腫瘍を含めた広い範囲の癌に対する分化誘導療法に期待が高まりつつある。

【0009】

【従来技術】前述のように、ATRAが臨床においてAPLに有効であることは、ヒュン(Huang)ら[ブラッド(Blood), 7, 2, 567-572, 1988.]を始め、キャストン(Castaigne)

ら [ブラッド (Blood), 76, 1704-1709, 1990.]、ワーレル (Warrell) ら [ニューイングランド・ジャーナル・オブ・メディスン (New Engl. J. Med.), 324, 1385-1393, 1991.] など、多く研究者が報告している。

【0010】またオルソン (Olsson) らは、ビタミンD<sub>3</sub>の生理活性型代謝物である 1 $\alpha$ , 25-ジヒドロキシコレカルシフェロール (以下、活性V.D<sub>3</sub>) が、ヒト・リンパ腫培養細胞系 (U937) において分化誘導作用を有することを報告している [キャンサー・リサーチ (Cancer Res.), 43(12Pt1), 5862-5867, 1983.]。これより分化誘導作用を有する活性V.D<sub>3</sub>誘導体の開発も盛んに行われるようになり、例えば特開昭61-33165号公報には24-アルキル-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>誘導体が抗腫瘍作用を有することが、また特開昭61-140560号公報には20-オキサ-21-ノル-ビタミンD<sub>3</sub>誘導体が分化誘導作用を有することが、それぞれ開示されている。

【0011】ツァン (Zhang) らは、ブファリン (Bufalin) がヒト白血病細胞の培養細胞系である HL-60、U937 および ML1 において分化誘導作用を示したことを報告している [バイオケミカル・アンド・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーションズ (Biochem. Biophys. Res. Commun.), 178(2), 686-693, 1991. および キャンサー・リサーチ (Cancer Res.), 52(17), 4634-4641, 1992.]。

【0012】また上記以外にも分化誘導作用を有する化合物として、バカラニ (Baccarani) らはシトシン・アラビノシド (Ara-C) を [ブリティッシュ・ジャーナル・オブ・ヘマトロジー (Br. J. Haematol.), 42, 485-487, 1979.]、モーリン (Morin) らはアクラシノマイシン A を [キャンサー・リサーチ (Cancer Res.), 44, 2807-2812, 1984.]、森屋らはインターフェロン- $\alpha$  を [臨床血液, 32, 170-172, 1991.] に報告している。

【0013】石倉らは、マウス骨髄球性白血病の培養細胞系を用いて、ゲラニル・ファルネソール (3, 7, 11, 15, 19-ペンタメチル-2, 6, 10, 14, 18-エイコサペンタエン-1-オール) が分化誘導作用を有することを報告している [ロイケミア・リサーチ (Leukemia Res.), 8(5), 843-852, 1984.]。

【0014】

【本発明が解決しようとする問題点】 ATRA およびその誘導体は、従来、皮膚癌や難治性皮膚角化疾患である乾癬の治療に利用されてきたが、副作用として死亡例も報告されており [アナルス・オブ・インターナル・メディスン (Annals of Internal Medicine), 117, 292-296, 1992.]、また長期間投与すると、白血球増多症、皮膚や口

唇の乾燥、皮膚炎、胃腸障害、骨痛、高中性脂肪血症、脂溶性が極めて高いため肝臓肥大などの肝障害等のビタミンA過剰症を発現しやすいことが広く知られている。その場合、投与を中止しても肝臓や組織に長期間残留するため、副作用が一度発現すると長期間消失しない重大な欠点がある。また ATRA が APL に対して有効であることは前述の通りであるが、寛解後、投与を継続しても再発しやすい問題点もあった。

【0015】ビタミンD<sub>3</sub>誘導体は骨粗鬆症などの治療に利用されているが、腸管でのカルシウム吸収および腎臓におけるカルシウム再吸収を促進するので、投与量が過剰になると高カルシウム血症を引き起こし、石灰沈着に起因する腎臓障害や消化器障害をもたらすことが知られている。このため投与期間中は定期的に血清カルシウム値を検査しなければならず、臨床では非常に使いにくい問題点がある。さらにビタミンD<sub>3</sub>誘導体の分化誘導作用は、ヒト前骨髄球性白血病の培養細胞系である HL-60 には有効であるが、他のタイプのモデルにおいては有効性が認められていない。

【0016】ブファリンは臨床には応用されていないため、その安全性に関して全く不明であり、ヒトでの有用性を予測することはできなかった。

【0017】さらにシトシン・アラビノシドやアクラシノマイシン A も安全性上の問題から国内では薬剤として許可されておらず、インターフェロン- $\alpha$  の抗腫瘍作用も期待されたほどではなかった。

【0018】ゲラニル・ファルネソールの分化誘導作用に関する評価結果はマウス白血病細胞培養細胞系におけるものである。その後ヒト白血病細胞培養細胞系での評価結果は全く報告されていないので、種の異なる細胞間での薬剤感受性の差を考慮すると、ヒトでの有効性は一切不明であった。

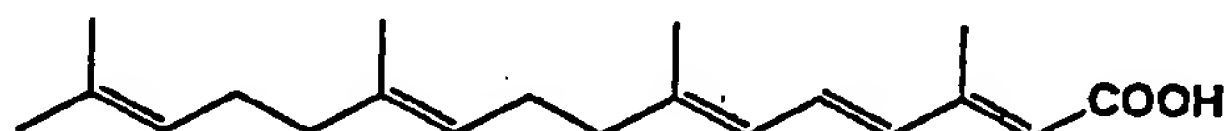
【0019】このように、造血器腫瘍、特に APL および MDS に対して優れた有効性と安全性を兼ね備えた薬剤はないのが現状であり、臨床で広範囲の癌に対し有用性の高い医薬品の開発が強く望まれていた。

【0020】

【課題を解決するための手段】本発明にかかる、(2E, 4E, -6E, 10E) - 3, 7, 11, 15-テトラメチル-2, 4, 6, 10, 14-ヘキサデカペンタエン酸 (I) [以下、化合物 (I)] は下記化学式で表され、

【0021】

【化3】



(I)

【0022】抗癌作用および角化を伴う皮膚疾患に対す 50 る改善作用を有する化合物として特公昭63-32058号公報

および特開昭57-181012号公報等に開示されており、マウスのバビローマにおいて抗癌作用が確認されている。またマウスを用いた毒性試験においては、ATRA投与群には脱毛、体重減少等のビタミンA過剰症状が発現するが、化合物(I)投与群には認められず、毒性が極めて低いことも確認されている。本発明者らは、化合物(I)が多彩な生理活性と低毒性を兼ね備えていることに着目し、永年他の疾患への有効性も検討してきた。その結果、意外にも分化誘導作用も有しており、造血器腫瘍に対する治療・改善剤として所期の目的を達成できることを見出し本発明を完成した。

【0023】従って本発明の目的は、分化誘導作用を有する臨床的有用性の高い、造血器腫瘍に対する治療・改善剤を提供することにある。具体的には化学式〔化3〕で表される化合物(I)またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする分化誘導剤、さらに詳しくは造血器腫瘍の治療・改善剤に関する。ここで造血器腫瘍の具体的疾患名の一例としては、例えばAPL、MDS、その他の急性白血病、慢性白血病、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、マクログロブリン血症などを挙げることができ、本発明の対象疾患がこれらに限定されないことは言うまでもないが、特にAPLおよびMDSに対する有効性が高い。

【0024】ATRAがAPLに対して著効を示す機序は、APL細胞には染色体15と染色体17間の相互転座が認められ、染色体15上の癌遺伝子PMLと染色体17上のレチノイン酸レセプター $\alpha$  (RAR- $\alpha$ ) 遺伝子が相互転座に伴い融合遺伝子PML/RAR- $\alpha$ を形成し、APL細胞の分化を抑制するためと考えられている。従って今後はAPLの治療にあたり、この融合遺伝子PML/RAR- $\alpha$ の有無を検査することにより、より適切な薬物治療が可能になると思われるが、これまでPML/RAR- $\alpha$ 陽性細胞に対する有効性は、ATRAを除いては認められていなかった。しかし本発明にかかる化合物(I)またはその薬理学的に許容される塩は、ATRA以外では初めてPML/RAR- $\alpha$ 陽性細胞に対して有効性が認められた化合物である。

【0025】また前記のように、ATRAでAPLを治療し、  
化合物(I)

[(2E,4E,6E,10E)-3,7,11,15-テトラメチル-2,4,6,10,14-ヘキサベンソイン酸]  
の急性毒性 (mg/Kg)

動物種	性別	経口	筋肉内	皮下	腹腔内
マウス (ICR系)	♂	> 6,250	2,000	> 4,000	970
	♀	> 6,250	> 2,000	> 4,000	1,100
ラット (SD系)	♂	2,400	830	2,500	731
	♀	2,850	1,120	2,800	680

【0031】表1から、本発明化合物のLD<sub>50</sub>値は高く、安全性が極めて高いことが明らかである。

寛解後さらに投与を継続しても再発しやすい問題点があった。これはATRAの長期投与により肝薬物代謝酵素誘導が起こり、ATRA自身の代謝が促進されて十分な血中薬物濃度を保てないためと考えられている〔キャンサー・リサーチ(Cancer Research), 52, 2138-2142, 1992.およびブラッド(Blood), 79(2), 299-303, 1992.〕。この点に関しても本発明にかかる化合物(I)は非環式イソプレノイドであり、環式イソプレノイドであるATRAとは構造的に全く異なるので、肝薬物代謝酵素誘導を起こさない可能性も期待できる。このように化合物(I)またはその薬理学的に許容される塩は、臨床における確実な有効性が期待できるものである。

【0026】なお本発明にかかる化合物(I)は、特公昭63-32058号公報に記載された方法に従い、ファルネシル・アセトン(Farnesyl acetone)などを出発物質として製造することができる。また本発明における薬理学的に許容される塩とは、化合物(I)と塩を形成可能なものであれば限定されないが、具体的には例えばナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩等のアルカリ金属の付加塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属の付加塩、アンモニウム塩、メチルアミン塩、エチルアミン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、エタノールアミン塩等のアミンの付加塩、アミノ酸の付加塩などを挙げることができる。

【0027】次に本発明化合物の急性毒性試験結果を示す。

【0028】

【急性毒性試験】

(方法) 7~8週齢のSD系ラットおよびICR系マウスをそれぞれ雄雄各5匹用い、経口・筋肉内・皮下・腹腔内投与による単回投与毒性試験を実施した(媒体: 5%アラビアゴム)。

【0029】(結果) LD<sub>50</sub>値(mg/Kg)を下表にまとめる。

【0030】

【表1】

【0032】投与剤型としては、例えば散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、被覆錠剤、カプセル剤などの経口製剤、



軟膏、貼付剤等の外用剤および注射剤が挙げられる。製剤化の際には、通常の製剤担体を用いて常法により製造することができる。

【0033】すなわち経口製剤を製造するには、化合物(I)またはその薬理的に許容される塩と賦形剤、さらに必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤などを加えた後、常法により散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、被覆錠剤、カプセル剤等とする。

【0034】賦形剤としては、例えば乳糖、コーンスターチ、白糖、ブドウ糖、マンニトール、ソルビット、結晶セルロース、二酸化ケイ素などが、結合剤としては、例えばポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、メチルセルロース、エチルセルロース、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン、シェラック、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリプロピレングリコール・ポリオキシエチレン・ブロックポリマー、メグルミンなどが、崩壊剤としては、例えば澱粉、寒天、ゼラチン末、結晶セルロース、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、クエン酸カルシウム、デキストリン、ペクチン、カルボキシメチルセルロース・カルシウム等が、滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ、硬化植物油等が、着色剤としては医薬品に添加することが許可されているものが、矯味矯臭剤としては、ココア末、ハッカ脳、芳香散、ハッカ油、竜腦、桂皮末等が用いられる。これらの錠剤・顆粒剤には糖衣、その他必要により適宜コーティングすることはもちろん差支えない。

【0035】また注射用製剤を製造する際には、化合物(I)またはその薬理的に許容される塩にpH調整剤、溶解剤、等張化剤などと、必要に応じて溶解補助剤、安定化剤などを加えて、常法により製剤化する。

【0036】外用剤を製造する方法は限定されず、

患者	年齢	性別	FAB分類・区別	骨髄(NCC*)芽球率×10 <sup>4</sup> (%)	染色体	癒合遺伝子PML/RAR-α
1	46	男	M3 再発	35.2 45	46XY,t(15:17)	(+)
2	49	男	M3 初発	80.0 95	46XY	(+)
3	48	女	M3 再発	13.9 94	46XX,t(15:17)	(+)

NCC\* ; 有核細胞数 (Nucleated Cell Counts)

【0041】(方法) ヒトAPL細胞の経代培養細胞株であるHL-60においては、初期細胞数を $5 \times 10^4$ 細胞/mlに調整し、化合物(I)あるいはATRA添加( $10^{-4} \sim 10^{-8}$ mol/l)のもと、10%加ウシ胎仔血清IMDM培地(ギブコ[Gibco]社製)にて5日間培養した。培養後、バーカー(Burker)-ターク(Turk)計算板にて全細胞数を、またトリバ

常法により製造することができる。すなわち製剤化にあたり使用する基剤原料としては、医薬品、医薬部外品、化粧品等に通常使用される各種原料を用いることが可能である。

【0037】使用する基剤原料として具体的には、例えば動植物油、鉱物油、エステル油、ワックス類、高級アルコール類、脂肪酸類、シリコン油、界面活性剤、リン脂質類、アルコール類、多価アルコール類、水溶性高分子類、粘土鉱物類、精製水などの原料が挙げられ、さらに必要に応じて、pH調整剤、抗酸化剤、キレート剤、防腐防黴剤、着色料、香料などを添加することができるが、本発明にかかる外用剤の基剤原料はこれらに限定されない。また必要に応じて他の分化誘導作用を有する成分、血流促進剤、殺菌剤、消炎剤、細胞賦活剤、ビタミン類、アミノ酸、保湿剤、角質溶解剤等の成分を配合することもできる。なお上記基剤原料の添加量は、通常外用剤の製造にあたり設定される濃度になる量である。

【0038】本発明における化合物(I)またはその薬理的に許容される塩の臨床投与量は、症状、重症度、年齢、合併症などによって異なり限定されず、また塩の種類・投与経路などによっても異なるが、通常成人1日あたり100mg~1200mgであり、好ましくは300mg~1000mgであり、さらに好ましくは500mg~700mgであり、これを経口、静脈内または経皮投与する。

【0039】

【発明の効果】次に本発明化合物の分化誘導剤としての有用性を示すため、APL患者の白血病細胞および各種ヒト白血病細胞培養系に対する効果実験例を挙げる。なお実験にあたり、血液を提供されたAPL患者の背景は以下の通りである。

【0040】

【表2】

ン・ブルー(Trypan Blue)に染色された細胞を死細胞として生細胞数を算出し、ID<sub>50</sub>およびLD<sub>50</sub>を求めた。またサイトスピン・スライドを作成し、メイ(May)-ギムザ(Giemsa)染色にて細胞形態の観察を行った。

【0042】APL患者から採取した細胞は、初期細胞数を $1 \times 10^6$ 細胞/mlに調整し、化合物(I)あるいはATRA添

加 ( $10^{-6} \sim 10^{-8} \text{ mol/l}$ ) または無添加のもと、上記10%加ウシ胎仔血清IMDM培地にて5日間培養した。その後HL-60の場合と同様な評価を行った。また下式により、全細胞に対して成熟細胞が占める割合を求め、分化誘導能を比較する指標とした

成熟細胞率(%) =  $[(\text{骨髓球数} + \text{後骨髓球数} + \text{桿状核球数} + \text{分葉核球数}) / \text{全細胞数}] \times 100$

【0043】(結果)

(1) HL-60に対する増殖阻害作用

HL-60に対する、化合物(I)あるいはATRA濃度と細胞数との関係を図1に、濃度と生細胞数との関係を図2に示す。

【0044】

【図1】

【0045】

【図2】

【0046】図1から明らかなように、化合物(I)、ATR

化合物(I)とATRAの、安全域 ( $\text{LD}_{50}/\text{ID}_{50}$  比) の比較

	$\text{ID}_{50} (\text{mol/l})$	$\text{LD}_{50} (\text{mol/l})$	$\text{LD}_{50}/\text{ID}_{50}$ 比
化合物(I)	$1.0 \times 10^{-5}$	$3.8 \times 10^{-5}$	3.80
A T R A	$1.4 \times 10^{-5}$	$2.5 \times 10^{-5}$	1.79

【0050】表3から明らかなように、 $\text{LD}_{50}/\text{ID}_{50}$ 比において、化合物(I)のほうがATRAよりも約2.1倍も安全域が広く、臨床においてより大きな有用性が期待できる。

【0051】(2) 化合物(I)とATRAの分化誘導能

HL-60 に対する分化誘導能

	芽球 (%)	前骨髓球 (%)	骨髓球 (%)	後骨髓球 (%)	桿状核球 (%)	分葉核球 (%)	分化率 (%)
コントロール	2	9 1	7	0	0	0	7
化合物(I)	0	8	4 2	2 0	1 7	1 3	9 2
A T R A	1	1 2	4 1	1 9	1 9	8	8 7

【0053】

Aは、いずれも濃度の増加と共にHL-60細胞の増殖を阻害し、 $7.5 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$ 以上では明らかな細胞増殖抑制効果が認められた。またそれぞれの $\text{ID}_{50}$ は、化合物(I)では $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ 、ATRAでは $1.4 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ であった。

【0047】また図2から明らかなように、化合物(I)、ATRAは、いずれも $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ 以上では生細胞数の減少が認められたが、それ以下の濃度における細胞毒性は低く、トリパン・ブルーで染色される死細胞は約10%以下と非常に少なかった。また図2から求めたそれぞれの $\text{LD}_{50}$ は、化合物(I)では $3.8 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ 、ATRAでは $2.5 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$ であった。

【0048】従って化合物(I)とATRAはいずれもHL-60細胞の分化を誘導することが明らかである。また両者の特長を明らかにするために、安全域の広さを示す指標である $\text{LD}_{50}/\text{ID}_{50}$ 比を求めた結果を表3に示す。

【0049】

【表3】

HL-60細胞に対する分化誘導能を表4に、APL患者細胞に対する分化誘導能を表5に示した。

【0052】

【表4】

【表5】

## APL細胞に対する分化誘導能

患者		芽球 (%)	前骨髄球 (%)	骨髄球 (%)	後骨髄球 (%)	桿状核球 (%)	分葉核球 (%)	分化率 (%)
1	コントロール	4	9 0	6	0	0	0	6
	化合物(I)	0	1 2	3 8	3 5	1 2	3	8 8
	A T R A	1	9	4 0	2 8	1 7	5	9 0
2	コントロール	3	9 2	5	0	0	0	5
	化合物(I)	2	1 4	4 8	3 2	2	2	8 4
	A T R A	2	1 4	4 5	3 0	8	1	8 4
3	コントロール	5	8 8	4	1	2	0	7
	化合物(I)	4	1 7	5 9	1 7	3	0	7 9
	A T R A	5	1 5	5 4	2 0	4	2	8 0

【0054】表4から明らかなように、培養後のHL-60の形態観察では、化合物(I)では $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$ 以上で、ATRAでは $1.0 \times 10^{-7} \text{ mol/l}$ 以上で十分な分化誘導作用が認められた。

【0055】一方、APL患者細胞を用いた検討においても、化合物(I)はATRAと同様に分化誘導作用を示した。さらにこれまでATRAのみが有効であった、融合遺伝子PML/RAR- $\alpha$ を有する細胞の全例に対しても、化合物(I)は有効であり、今後APL患者に対して同遺伝子の検査が日常的に行われるようになれば、より適切な薬物治療が可能になると思われる。さらに前記の化合物(I)の安全域

の広さも併せて考えると、化合物(I)またはその薬理的に許容される塩は、臨床においてより優れた有用性が期待できることが明らかである。

【0056】

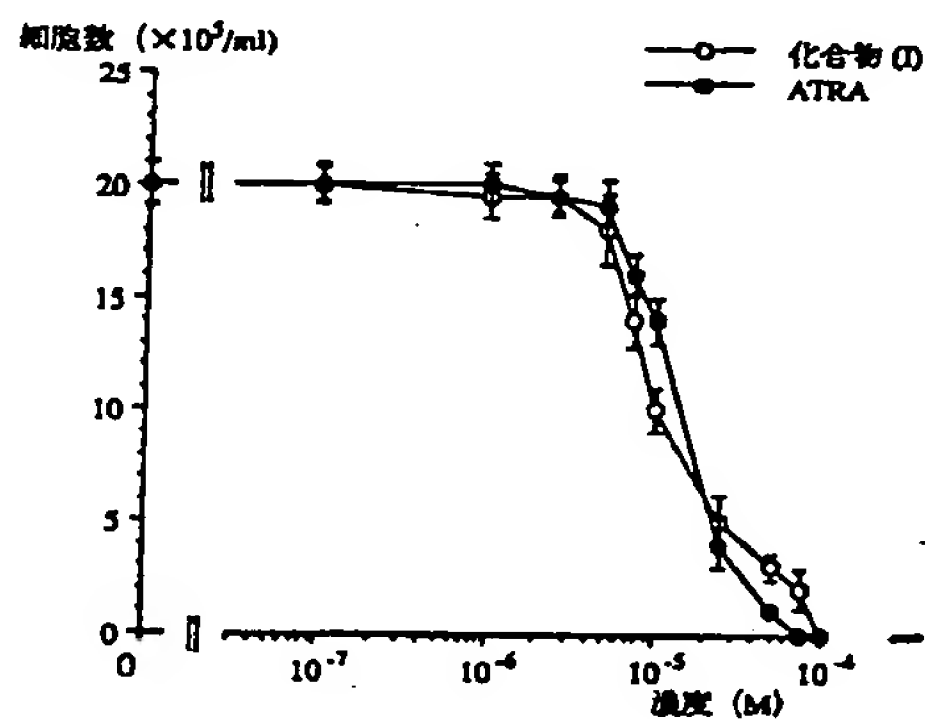
【図面の簡単な説明】

【図1】 ヒトAPL細胞の経代培養細胞株であるHL-60に対する、化合物(I)あるいはATRA濃度と細胞数の関係を示した図である。(平均±標準偏差で示す)

【図2】 HL-60に対する、化合物(I)あるいはATRA濃度と生細胞数の関係を示した図である。

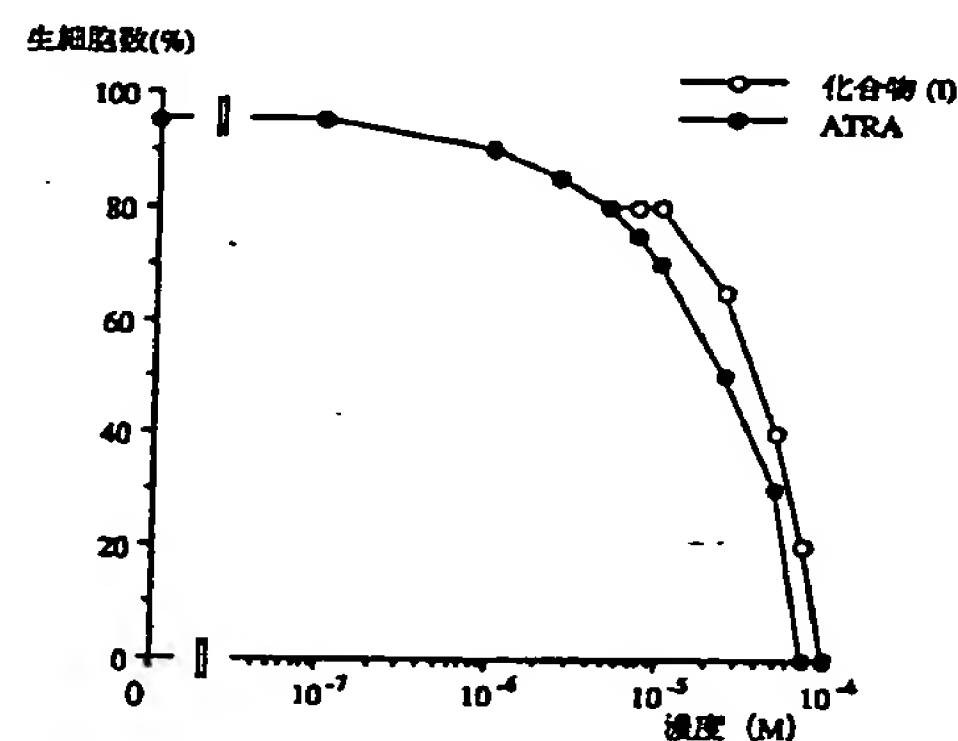
【図1】

30



【図2】

40



フロントページの続き

(72)発明者 浅野 茂隆

東京都杉並区大宮 1-20-25